

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-086531  
 (43)Date of publication of application : 28.03.2000

(51)Int.Cl. A61K 38/00  
 A61P 35/04  
 A61K 45/00

(21)Application number : 11-150807 (71)Applicant : NIPPON KAYAKU CO LTD  
 (22)Date of filing : 31.05.1999 (72)Inventor : YAMAGUCHI OSAMU  
 SAIMOTO ATSUYA  
 YOKUMOTO HISAO

## (30)Priority

Priority number : 10152394 Priority date : 02.06.1998 Priority country : JP  
 10197665 13.07.1998 JP

**(54) CANCEROUS METASTASIS OR PROLIFERATION-SUPPRESSING AGENT****(57)Abstract:**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a drug useful for treatment and prevention of metastasis of cancer subject to aggravation due to sthenia of cell movement capability associated with bradykinin by suppressing the action produced by bonding of bradykinin receptor of cancerous cells to its ligand.

**SOLUTION:** This drug, an antagonist against bradykinin receptor, is such one as to suppress the movement.migration of cancerous cells when a ligand, e.g. bradykinin, fluctuates intracellular calcium via bradykinin receptor, resulting in the infiltration.metastasis of cancerous cells. The above antagonist is e.g. an antagonist against bradykinin B2 receptor and FR173657[(E)-3-[6-acetamide-3- pyridyl]-N-[N-[2,4-dichloro-3-[(2-methyl-8-quinolinyloxy)methyl]phenyl]-N- methylaminocarbonylmethyl]acrylamide} or the like is pref. used. Preferably, the dosage of the above antagonist is 1-300 mg per once, once to thrice daily.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final-disposal-for-application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-86531

(P2000-86531A)

(43)公開日 平成12年3月28日 (2000.3.28)

(51)Int.Cl.  
A 6 1 K 38/00  
A 6 1 P 35/04  
A 6 1 K 45/00

識別記号

F I  
A 6 1 K 37/02  
31/00  
45/00

マーク (参考)

6 3 5 B

審査請求 未請求 請求項の数 7 O.L (全 4 頁)

(21)出願番号 特願平11-150807  
(22)出願日 平成11年5月31日(1999.5.31)  
(31)優先権主張番号 特願平10-152394  
(32)優先日 平成10年6月2日(1998.6.2)  
(33)優先権主張国 日本 (JP)  
(31)優先権主張番号 特願平10-197665  
(32)優先日 平成10年7月13日(1998.7.13)  
(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000004086  
日本化薬株式会社  
東京都千代田区富士見1丁目11番2号  
(72)発明者 山口 憲  
福島県福島市渡利山の神30-9  
(72)発明者 稲本 敦也  
東京都北区志茂3-17-1  
(72)発明者 沢本 久雄  
東京都北区志茂2-4-5

(54)【発明の名称】癌の転移又は増殖抑制剤

(57)【要約】

【課題】癌の死亡要因に癌の遠隔転移が直接的または間接的に関与している。癌の転移過程で癌細胞の運動能の亢進による浸潤・転移は極めて重要な段階である。この運動能を亢進させる因子を抑制し、転移を抑制する薬剤が望まれる。

【解決手段】ブラジキニンはブラジキニン受容体を介して癌細胞の運動能を亢進するが、ブラジキニン拮抗剤が癌細胞の運動能の亢進を抑制し、癌細胞の増殖をも抑制することを見出した。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】癌細胞のプラジキニン受容体とそのリガンドとの結合により生じる作用を抑制する薬剤。

【請求項2】リガンドがプラジキニンである請求項1の薬剤。

【請求項3】プラジキニン拮抗剤を有効成分とする癌細胞の浸潤又は転移抑制剤。

【請求項4】プラジキニン拮抗剤を有効成分とする癌細胞の増殖抑制剤。

【請求項5】プラジキニン拮抗剤がプラジキニンB2受容体に対する拮抗剤である請求項3の浸潤又は転移抑制剤。

【請求項6】プラジキニン拮抗剤がプラジキニンB2受容体に対する拮抗剤である請求項4の増殖抑制剤。

【請求項7】プラジキニン拮抗剤を有効成分とする癌の治療又は転移予防剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は癌細胞の運動能の亢進による浸潤・転移を抑制する癌転移抑制剤又は癌増殖抑制剤に関するものである。

20

## 【0002】

【従来の技術】近年、癌治療は着実に進歩しており、特に、外科的手術、放射線治療あるいは化学療法による原発癌の除去に対する成功率の向上がその進歩に寄与している。

【0003】しかしながら、原発癌の除去が完全になされても癌の転移により死亡する場合が少なくなく、外科的手術、放射線治療あるいは化学療法では癌の転移を完全に阻止するには限界があり、依然として癌による死亡原因に於いて癌の遠隔転移が直接的又は間接的に関与している。

【0004】現在、癌の転移について、下記の血行性転移メカニズムが想定されている。即ち、(1)原発巣で癌細胞が増殖、(2)血管が新生、(3)悪性化した癌細胞が新生血管を浸潤、血管内に侵入、(4)体内を循環、(5)標的部位に到達、(6)血管外に浸潤、(7)標的臓器で増殖、(8)転移巣の形成、というものである。

【0005】これらの複雑な転移成立過程の中で、癌細胞の運動能の亢進による浸潤・転移は極めて重要な段階である(Cell, 64, 327-336 (1991))。これまでに、高転移性癌細胞は、それ自身が自己分泌型運動因子を產生し、固有運動を亢進させることが報告されている(Proc. Natl. Acad. Sci., 83, 3302-3306 (1986))。

【0006】この悪性因子に対する阻害物質は転移抑制剤として期待できる。しかし、今までにその特異的阻害剤は見出されていない。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】このような状況において、自己分泌型運動因子の阻害剤を見出し癌転移抑制剤

40

50

として開発することが求められている。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは癌細胞が浸潤・転移する時にプラジキニンがプラジキニン受容体を介して細胞内カルシウムを変動させて運動・移動することを見出し、また、プラジキニン受容体の拮抗剤がその運動を抑制することを見出し、更に、プラジキニン拮抗剤が癌の増殖を阻害することも見出し、本発明を完成した。即ち、本発明は、

【0009】(1)癌細胞のプラジキニン受容体とそのリガンドとの結合により生じる作用を抑制する薬剤、

(2)リガンドがプラジキニンである上記(1)記載の薬剤、(3)プラジキニン拮抗剤を有効成分とする癌細胞の浸潤又は転移抑制剤、(4)プラジキニン拮抗剤を有効成分とする癌細胞の増殖抑制剤、(5)プラジキニン拮抗剤がプラジキニンB2受容体に対する拮抗剤である上記(3)記載の浸潤又は転移抑制剤、(6)プラジキニン拮抗剤がプラジキニンB2受容体に対する拮抗剤である上記(4)記載の増殖抑制剤、(7)プラジキニン拮抗剤を有効成分とする癌の治療又は転移予防剤、に関する。

【0010】プラジキニン受容体としては、プラジキニンB1受容体、プラジキニンB2受容体などが知られており、又、プラジキニン拮抗剤としてはいくつかの化合物が知られている。本発明のプラジキニン拮抗剤としては、現在までに知られているプラジキニン拮抗剤をはじめ、プラジキニン受容体と結合しその作用を阻害するものであればどのようなものでも使用できる。本発明のプラジキニン拮抗剤の具体例としては、例えば、[des-Arg<sup>9</sup>, [Leu<sup>5</sup>]]-プラジキニン、[Lys<sup>6</sup>, des-Arg<sup>9</sup>, [Leu<sup>5</sup>]]-プラジキニン、[D-Phe<sup>7</sup>]-プラジキニン、HOE-140 ([D-Arg<sup>9</sup>, Hyp<sup>5</sup>, Thi<sup>6,8</sup>, D-Tic<sup>7</sup>, Oic<sup>9</sup>]-プラジキニン: Hyp=Hydroxyprolyl, Thi=β-2-Thienylalanyl, Tic=Tetrahydroisoquinolinecarbonyl, Oic=Octahydroindolecarbonyl)、N P C 1 7 7 6 1 ([1-Adamantaneacetyl-D-Arg<sup>9</sup>, Hyp<sup>5</sup>, Thi<sup>6,8</sup>, D-Phe<sup>7</sup>]-プラジキニン)、WIN 6 4 3 3 8 (Phosphonium[[4[[2[[bis(cyclohexylamino)methylene]amino]-3-(2-naphthalenyl)-1-oxopropyl]amino]phenyl]methyl]tributylchloride, monohydrochloride)、FR 1 7 3 6 5 7 ((E)-3-(6-Acetamide-3-pyridyl)-N-[N-[2,4-dichloro-3-[2-methyl-8-quinolinyl]oxymethyl]phenyl]-N-methylaminocarbonylmethylacrylamide)などをあげることができる。好ましくは、HOE-140、FR 1 7 3 6 5 7などがあげられる。

【0011】本発明に使用されるプラジキニン拮抗剤は経口、非経口のいずれでも投与することができ、錠剤、散剤、注射剤など通常使用されている剤型に製剤化することができる。製剤中に含まれるプラジキニン拮抗剤等のリガンドは特に限定されないが、通常0.001%~

100%の範囲から選択することができる。

【0012】本発明に使用されるプラジキニン拮抗剤の投与量は年齢、体重、病態、治療効果、投与方法、投与時期、投与日数、投与期間により異なるが、1回1～30.0mgを1日1～3回、好ましくは、10～100mgを1日1～2回投与する。本発明により浸潤、転移又は増殖の抑制及び治療される腫瘍は、プラジキニン受容体を持つものであれば特に限定されないが、例えば胃癌、肝臓癌、肺腺癌、大腸癌、膀胱癌、子宮癌、肺癌等が挙げられる。

#### 【0013】

【実施例】次に、本発明の実施例を挙げて更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 【0014】実施例1

マウス膀胱癌細胞MBT-2に対する運動促進活性

【0015】マウス膀胱癌細胞MBT-2を10%牛胎児血清を含む RPMI-1640培地にて継代培養し、対数増殖期にある細胞を無血清培地に置き換え一晩培養した。運動促進活性の測定にはボイデン・チャンバー（膜ポアサイズ8μm）を用い、膜にはあらかじめマウス・ラミニンを塗布したものを用いた。細胞を $2 \times 10^4 / \text{well}$ となるようにボイデン・チャンバーの上室に撒き、下室にはケモアトラクタントとしてプラジキニンを最終濃度で5nM、50nM、500nM添加した。対照群はプラジキニン無添加群とした。37℃、10時間培養後、ヘマトキシリン・エオシン染色で細胞を染色し、膜の下側に移動した細胞数を倒立顕微鏡下で計測した。

【結果】対照群での移動細胞数は $30 \pm 9$ 個（平均土標準偏差）であり、プラジキニン5nM、50nM、500nM添加群の移動細胞数はそれぞれ $50 \pm 12$ 個、 $58 \pm 10$ 個、 $60 \pm 14$ 個であった。対照群に比べ、プラジキニンを添加した群では膜の下側に移動したMBT-2細胞数が増加し、プラジキニンには運動促進活性があることを認めた。また、プラジキニンの運動促進活性は濃度依存的に増強されていた。

#### 【0016】実施例2

マウス膀胱癌細胞MBT-2に対する浸潤促進活性

マウス膀胱癌細胞MBT-2を10%牛胎児血清を含むRPMI-1640培地にて継代培養し、対数増殖期にある細胞を $1 \times 10^5 / \text{ml}$ に調整し、マトリゲル・インベーション・チャンバーの上室に播種した。上室には更にプラジキニンを最終濃度100nMを加え、対照群はプラジキニンを添加しない群とした。37℃で24時間培養後、ヘマトキシリン・エオシン染色で細胞を染色し、膜の下側に移動した細胞数を倒立顕微鏡下で計測した。

【結果】プラジキニン添加群では浸潤した細胞数は $38 \pm 11$ 個（平均土標準偏差、n=6）であり、対照群では $38 \pm 19$ 個で、プラジキニンによるMBT-2

10

細胞の浸潤能の亢進が認められた。

#### 【0017】実施例3

マウス膀胱癌細胞MBT-2の運動能に対するプラジキニン拮抗剤[D-Arg<sup>0</sup>, Hyp<sup>3</sup>, Thi<sup>5,8</sup>, D-Phe<sup>7</sup>]-プラジキニンの阻害活性

実施例1と同様にマウス膀胱癌細胞MBT-2を10%牛胎児血清を含むRPMI-1640培地にて継代培養し、対数増殖期にある細胞を無血清培地に置き換え一晩培養した。運動促進活性の測定にはボイデン・チャンバー（膜ポアサイズ8μm）を用い、膜にはあらかじめマウス・ラミニンを塗布したものを用いた。細胞を $2 \times 10^4 / \text{well}$ となるようにボイデン・チャンバーの上室に撒き、下室にはケモアトラクタントとしてプラジキニンを最終濃度で50nM添加し、更にプラジキニン拮抗剤[D-Arg<sup>0</sup>, Hyp<sup>3</sup>, Thi<sup>5,8</sup>, D-Phe<sup>7</sup>]-プラジキニン（シグマ社製）を最終濃度で1μM、5μMとなるよう添加した。37℃で10時間培養後、ヘマトキシリン・エオシン染色で細胞を染色し、膜の下側に移動した細胞数を倒立顕微鏡下で計測した。

20

【結果】対照群、プラジキニン50nM添加群の移動細胞数はそれぞれ、 $114 \pm 14$ 個（平均土標準偏差）、 $177 \pm 12$ 個であり、対照群に比べプラジキニン50nM単独添加群では明らかにMBT-2の運動促進活性が認められた。しかしプラジキニン50nMに対してプラジキニン拮抗剤を添加した群では、1μM添加群では $129 \pm 47$ 個、5μM添加群では $70 \pm 9$ 個であり、プラジキニンによって促進された運動活性はプラジキニン拮抗剤で抑制された。特にプラジキニン拮抗剤5μM添加群では対照群よりも運動能を抑制しており、プラジキニン拮抗剤には強い運動能阻害活性が認められた。

#### 【0018】実施例4

マウス膀胱癌細胞MBT-2の浸潤能に対するプラジキニン拮抗剤[D-Arg<sup>0</sup>, Hyp<sup>3</sup>, Thi<sup>5,8</sup>, D-Phe<sup>7</sup>]-プラジキニンの阻害活性実施例2と同様にマウス膀胱癌細胞MBT-2を10%牛胎児血清を含むRPMI-1640培地にて継代培養し、対数増殖期にある細胞を $1 \times 10^5 / \text{ml}$ に調整し、マトリゲル・インベーション・チャンバーの上室に播種した。上室には更にプラジキニン、プラジキニン拮抗剤を添加した。実験群は、プラジキニン100nM群、プラジキニン100nM+プラジキニン拮抗剤5μM群、プラジキニン拮抗剤5μM群とし、対照群は溶媒として5%グルコース溶液のみ添加した。37℃で24時間培養後、ヘマトキシリン・エオシン染色で細胞を染色し、膜の下側に移動した細胞数（浸潤細胞数）を倒立顕微鏡下で計測した。

【結果】対照群の浸潤細胞数は $89.8 \pm 8.9$ 個（平均土標準偏差）、プラジキニン100nM群の浸潤細胞数は $183.5 \pm 30.5$ 個であり、有意に細胞浸潤の亢進が認められた（t検定、p < 0.01）。また、プラジキニン100nM+プラジキニン拮抗剤5μ

40

M群の浸潤細胞数は8.8. 9±8.10個であり、ブジキニンによる浸潤亢進が有意に抑えられた ( $p < 0.01$ )。一方、ブジキニン拮抗剤 $5\mu M$ 群の浸潤細胞数は7.3. 6±1.0. 4個であり、ブジキニン拮抗剤単独では細胞浸潤に対する抑制は認められなかった。

## 【0019】

【発明の効果】本発明のブジキニン拮抗剤によるブジキニンで刺激した細胞の運動の抑制は、ブジキニンの関与する細胞運動能の亢進により病態が悪化する癌の治療及び転移の予防に有用である。